

**Über das Vorkommen von
vibrionenähnlichen Keimen im
Verdauungstrakt des Schweines**

Hans-Jürgen Krawietz

1964

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere
der Ludwig-Maximilians-Universität in München
Vorstand: Professor Dr. A. MAYR

ÜBER DAS VORKOMMEN VON VIBRIONENÄHNLICHEN
KEIMEN IM VERDAUUNGSTRAKT DES SCHWEINES

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Hans-Jürgen Krawietz
aus
Schwetzingen/Baden-Würtbg.

München 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. L. KOTTER

Referent: Prof. Dr. M. ROLLE

Tag der Promotion: 28. Februar 1964



MEINER LIEBEN MUTTER
IN DANKBARKEIT GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literatur	2
A. Allgemeiner Teil	2
B. Spezieller Teil	6
Vibrio suis	
a) Morphologie	6
b) Kulturelle und biochemische Eigenschaften	7
c) Pathogenität	7
C. Biochemische Unterscheidungsmöglichkeiten von vibrionenähnlichen Keimen	8
1. Katalaseprobe	8
2. Schwefelwasserstoffbildung	8
3. Nitratreduktion	9
4. NaCl-Toleranz	9
D. Nährmedien zur Züchtung und Aufbewahrung von Spirillen und Vibrionen	9
a) Flüssige und gallertige Nährmedien	9
b) Feste Nährmedien	11
E. Serologische Differenzierung	11
Agglutinationsmethode	12
III. Eigene Untersuchungen	13
A. Material und Methodik	13
a) Untersuchungsmaterial und Probenentnahme	13
b) Anzüchtung des Untersuchungsmaterials	13
B. Morphologie	16
C. Wachstumsprüfung auf verschiedenen Nährmedien	19

	Seite
a) Flüssige und gallertige Nährmedien	19
b) Feste Nährmedien	22
D. Untersuchung der isolierten Vibrionen auf ihr biochemisches Verhalten	25
1. Katalaseprobe	25
2. Schwefelwasserstoffbildung	25
3. Nitratreduktion	26
4. NaCl-Toleranz	26
5. Wachstumsprüfung in Na-thioglykolat- bouillon mit 1% Harnstoffzusatz	26
6. Indol-Nachweis	27
7. pH-Wert-Bestimmung	27
E. Serologische Differenzierung der aus dem Schweinedarm isolierten Vibrionen-Stämme	28
1. Herstellung der Antigene	28
2. Herstellung der Antisera von Kaninchen	28
3. Ausführung der Agglutination	29
4. Kreuzagglutination zwischen Vibrionen aus dem Schweinedarm und Vibrionen aus dem Rinderdarm	29
5. Herstellung der Antisera von Meerschweinchen gegen Vibrionen aus dem Schweinedarm	30
IV. Diskussion	32
V. Zusammenfassung	36
VI. Literaturverzeichnis	38
Lebenslauf	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548306_0080

I. EINLEITUNG

Über einen vibrionenähnlichen Keim des Schweines, der von einigen Autoren als *Vibrio suis*, *Vibrio coli* oder *Spirillum suis* bezeichnet wird, sind bisher erst wenige unvollständige Arbeiten erschienen. Es wird ihm eine aetiologische Bedeutung beim Zustandekommen des als Schweinedysenterie bezeichneten Krankheitsbildes zugeschrieben. Da der vibrionenähnliche Keim auch bei gesunden Tieren vorkommt, wäre es möglich, daß es sich hier um einen fakultativ pathogenen Keim handelt. Aus der Beschreibung der Morphologie und des Wachstums auf Nährmedien ist dieser Mikroorganismus als sehr ähnlich dem *Vibrio fetus* und *Vibrio jejuni* zu betrachten. Eine genaue Differenzierung scheint nur durch die serologische Unterscheidung möglich zu sein.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde mir von Herrn Professor Rolle die Aufgabe gestellt, zu untersuchen, in wie weit vibrionenähnliche Keime im Darmtrakt des Schweines vorkommen und wie sie sich morphologisch, kulturell und biochemisch verhalten. Außerdem wäre noch zu klären, wie sie sich von den Vibrionen des Rindes serologisch trennen lassen.

II. LITERATUR

A. ALLGEMEINER TEIL

Vibrio suis wird als aetiologischer Faktor der Dysenterie bei Schweinen angesehen. Mc Fadyean und Stockmann (1909) (8) sahen zuerst Spirillen als Ursache von Abort bei Schafen und Rindern. Um die gleiche Zeit gelang es Smith und Taylor (32) in den USA den Erreger (*Spirillum*) nachzuweisen. In Deutschland wurde die Krankheit von Gminder (11) und von Lerche (20) beschrieben. Die Bezeichnung der Erreger ist nicht einheitlich. Lehmann und Neumann (19) haben 1912 den Erreger als *Spirillum* bezeichnet. Der Name *Vibrio fetus* wurde von Theobald Smith (31) im Jahre 1919 vorgeschlagen.

Hierzu ist zu bemerken, daß die Nomenklatur der Spirillaceae nicht genügend geklärt ist. In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (2) wird die Stellung der Spirillen wie folgt angegeben:

Klasse: Schizomyceten

Ordnung: Pseudomonadales

Familie: Spirillaceae

Gattung: *Vibrio*

Spirillum Ehrenberg

Die Unterscheidung der Gattungen *Vibrio* und *Spirillum* bereitet erhebliche Schwierigkeiten. Die Definition der Genera ist in Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity (34) folgendermaßen angegeben:

"1. Vibrionen: Kurze, gekrümmte, starre Stäbchen, vorkommend in einzelnen Zellen oder vereint zu S-förmigen Spiralen. Beweglich sind sie durch eine einzige polare Geißel, welche gewöhnlich ziemlich kurz ist. Einige Arten können 2 oder 3 polare Geißeln haben. Es sind keine Sporenbildner. Gramnegativ. Aerobier und fakultative Anaerobier. Viele Arten verflüssigen Gelatine und sind aktive Ammoniakbildner. Gewöhnlich findet man sie im Wasser. Die meisten Arten sind Saprophyten, aber nur wenige sind für den Menschen pathogen.

2. Spirillen: Starre Stäbchen von spiraliger Form, die in Zahl, Länge und Breite der Spiralen variieren. Gewöhnlich sind sie mittels Büscheln von polaren Geißeln (5 - 20) beweglich. Die Geißeln treten an einem

oder beiden Polen auf. Ihre Zahl ist unterschiedlich und sehr schwer zu bestimmen, da im gefärbten Zustand oft einige zu einem Strang zusammengeklebt sind. Immer Gram-negativ. Einige Arten bilden rötlich-gelbes und grünlich-gelbes Pigment. Vorkommen in fauligem Wasser."

In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ist der Unterschied zwischen Vibrionen und Spirillen noch klarer definiert:

"1. Vibrio Müller, 1773

Kurze, gekrümmte Zellen, kommaförmig oder in Spiralförmigkeit vorkommend. Sie bewegen sich vermittelst einer einzigen polaren Geißel, welche gewöhnlich relativ kurz ist; selten kommen 2 oder 3 Geißeln in einem Büschel vor. Sie wachsen gut und schnell auf der Oberfläche von gewöhnlichen Nährmedien. Die heterotrophen Organismen wechseln größtenteils in ihren Nahrungserfordernissen. Es sind aerobe, fakultativ anaerobe und anaerobe Arten. Weitgehend verbreitet sind die saprophytären Formen in Salz- und Frischwasser und in der Erde; außerdem kommen sie als parasitäre und pathogene Formen vor. Dieser Typ entspricht der Art *Vibrio comma* (Schroeter) Winslow et al.

2. Spirillum Ehrenberg

Die Zellformen sind entweder lange Spiralen oder auch kommaförmig. Volutingranulationen sind gewöhnlich vorhanden. Sie bewegen sich vermittelst Büscheln von polaren Geißeln (5 - 20), welche an einem oder auch beiden Enden der Zelle vorkommen können. Sie sind Aerobier und wachsen gut auf gewöhnlichen Nährböden, außer einer saprophytären und den pathogenen Arten. Diese haben sich noch nicht gut kultivieren lassen. Meist findet man sie in Frisch- und Salzwasser, das organische Substanzen enthält. Dieser Typ entspricht der Art *Spirillum undula* (Müller) Ehrenberg."

Rolle und Mundt (28) stellten auf Grund von Elektronenaufnahmen fest, daß die Spirillen, die aus dem Schweinedarm stammten, bipolar begeißelt waren. Sie ließen im Gegensatz zu *Vibrio fetus* starke endoplasmatische Granulierungen wahrnehmen. Nach der Begeißelung und Granulierung der untersuchten Mikroben aus dem Schweinedarm lassen diese sich in die Gattung *Spirillum* einreihen (nach Bergey (1948)). Es gelang ihnen nicht, aus dem Schweinedarm Mikroorganismen, die zur Gattung *Vibrio* gehören, zu isolieren.

Aus diesen Definitionen ergeben sich die großen Schwierigkeiten, da die für beide Gruppen als charakteristisch angegebenen Eigenschaften Veränderungen unterworfen sind. Lehmann und Neumann (19a) betonen, daß die Unterscheidung nach Geißelzahl und -anordnung nicht streng durchführbar ist. Als Merkmal bliebe also lediglich die Länge der Mikroben bestehen. Aber auch das ist ein so relativer Begriff, daß man daraufhin eine sichere Klassifizierung nicht durchführen kann.

Die Gattung *Vibrio* hat O. Fr. Müller (24) 1773 erstmalig erwähnt, indem er Mikroorganismen mit vibrierender Eigenschaft in Wassertröpfchen so benannte.

Löffler (21) rechnete solche Mikroorganismen zu der Gattung *Vibrio*, wenn es sich um kommaförmige, begeißelte Zellen handelt. Für die bisher selten vorkommenden, unbeweglichen (geißellosen) Vibrionen hat Migula (23) den Gattungsnamen *Spirosoma* eingeführt. Die beweglichen mit polaren Geißeln unterteilte er in die Gattung *Mikrospira* und mit bipolarer oder lateraler Begeißelung in die Gattung *Spirillum*.

In der Humanmedizin erlangten die Spirillen zuerst eine Bedeutung, als Robert Koch (16) im Jahre 1882 zuerst in Ägypten und dann in Indien den Erreger der Cholera asiatica des Menschen entdeckte. Koch nannte 1884 diesen Erreger *Spirillum cholerae* oder auch *Kommabazillus*. Zopf (35) nannte 1885 den Erreger *Spirillum cholerae asiaticae*. Nach Bergey wird er als *Vibrio comma* (Schröter) bezeichnet.

Der erste Bericht über Vibrionen, die bei Tieren vorkommen, stammte von Gamaleia (10). Er beschrieb 1888 eine Art, nämlich *Vibrio metschnikovii*, den er als Enteritidiserreger bei Geflügel fand. Die Krankheit wird als Vibrionencholera der Hühner oder Geflügel-Gastroenteritis bezeichnet. Sie ist charakterisiert durch eine deutliche Darmentzündung, die von profusem Durchfall begleitet ist.

Mikroorganismen mit spiraliger Krümmung, mit einem oder mehreren Geißelbüscheln in polarer, häufig aber bipolarer Anordnung, hat Ehrenberg (7) in die Gattung *Spirillum* eingereiht. Cohn (4) hat die Beschreibung dieser Gattung dadurch ergänzt, daß er neben der polaren und bipolaren Organellenanordnung noch eine seitenständige bemerkt.

Kutscher (17) kultivierte aus Düngerjauche und Schweinekot Keime mit schwacher Krümmung, die er als Vibrionen bezeichnete.

Th. Smith (31a) hat 1891 über einen vibrionenähnlichen Keim berichtet, den er Anfang 1889 aus dem Colon von Schweinen isoliert hat.

Doyle (6) gelang es bereits 1918 Schweinedysenterie zu übertragen durch Verfütterung von Kot und von Darmstücken von an Dysenterie erkrankten Schweinen. 1943 isolierte er erstmals Vibrionen aus einem von Dysenterie befallenen Darm. Er nannte sie *Vibrio coli*. 1946 übertrug er durch Verfütterung von Vibrionenkulturen erstmals künstlich Dysenterie.

Auch Schmid und Klingler (30), von Ballmoos (1) und Messerli (22) gelang der Nachweis von Vibrionen aus dem Darmkanal von an Schweinedysenterie erkrankten Tieren. Bei den in Schweinen gefundenen Keimen fehlten leider mehrere nähere morphologische Beschreibungen, auf Grund deren es möglich wäre, diese einwandfrei zur Gattung *Vibrio* zu stellen. Sie bezeichneten diese, wie Doyle, als *Vibrio coli*.

Harms und Hörter (12) betitelten 1953 die aus dem Schweinedarm gezüchteten Keime als *Vibrio suis* (Ford 1927), die im ungefärbten Präparat etwas plumper als die *Vibrio-fetus*-Keime seien. Sie färbten sich auch intensiver als jene. Auch zu längeren Fäden konnten die Zellen anwachsen. In den Keimen wurden Granula ermittelt.

1957 wurden von Williams und Rittenberg (33) 19 verschiedene *Spirillum*-Arten abgegrenzt. *Spirillum suis* wurde in dieser Arbeit nicht aufgeführt. Es ließen sich bei diesen Spirillen im Verhalten zum Luft-sauerstoff, in der Pigmentbildung, bei der Spaltung von Nitrat zu Nitrit sowie dem Verhalten bei verschiedenen Temperaturen keine Anhaltspunkte dafür finden, daß diese mit den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Mikroben identisch sind.

1959 haben Diliello, Poelma und Faber (5) 6 Vibrionenstämme, die sie aus dem Schweinedarm isoliert hatten, serologisch und biochemisch untersucht. Sie stellten fest, daß sie nicht einheitlich waren. Nach den Ergebnissen der serologischen Untersuchung ließen sie sich in 3 Untergruppen aufteilen. Die Autoren bemerkten, daß eine der Untergruppen mit 3 Stämmen eine serologische Verwandtschaft zu *Vibrio fetus* besitzt. Diese

Schweinevibrionen sind im Gegensatz ui *Vibrio fetus* salz-tolerant.

P. v. Ballmoos (1) infizierte Meerschweinchen, Kaninchen, Ratten und weiße Mäuse mit einer Vibrionenaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung subcutan und intraperitoneal. Die Vibrionen waren aus dem Darm von Schweinen isoliert. Nach 10 Wochen Beobachtungszeit waren die Tiere klinisch völlig gesund. Pathologisch-anatomische Veränderungen waren nicht vorhanden. Vibrionen konnten nicht nachgewiesen werden.

Mundt (25) machte ähnliche Versuche mit *Spirillum suis* an kleinen Labortieren. Ihm gelang der Nachweis der Keime aus der Milz dieser Tiere.

B. SPEZIELLER TEIL

Vibrionenähnliche Keime

a) Morphologie

Rolle und Mundt (28) konnten im Phasenkontrastmikroskop beobachten, daß die vibrionenähnlichen Keime vom Schwein, die sie sowohl aus den Ingesta als auch aus der Rectum- und Colonschleimhaut gewannen, in flüssigen Kulturen im Vergleich zu *Vibrio fetus* keine besonders abweichenden Eigenschaften der Fortbewegungsart sowie auch der Form und Größe erkennen ließen. Es ist daher unmöglich, die beiden Keimarten im Phasenkontrast voneinander mit Sicherheit zu unterscheiden.

"*Spirillum suis*" ist eine kommaförmige, gekrümmte, bipolar begeißelte Zelle, die zu Fadenbildung neigt. Einzeln liegende Keime führen schnelle Vorwärtsbewegung, mehrere aneinanderhängende Zellen jedoch ruckartige Vorwärts- und Rückwärtsbewegungen aus. "*Spirillum suis*" ist gram-negativ und färbt sich am besten mit Viktoriablau (3%ig und 1 Minute). Bei aus festen Nährböden stammenden Ausstrichen behält *Vibrio fetus* die gleiche Form wie in flüssigen Nährböden, die Spirillen dagegen, aus festen Nährböden stammend, sehen wie Stäbchen aus.

Spirillen, die aus dem Schweinedarm stammten, waren, wie Rolle und Mundt (28) feststellten, bipolar begeißelt und ließen im Gegensatz zu *Vibrio fetus* starke endoplasmatische Granulierungen wahrnehmen.

Harms und Hörter (12) berichten ebenfalls, daß *Vibrio suis* seine lebhafte Eigenbewegung durch die Züchtung auf Trockennährboden verliert. Es bedarf erst wieder einer Passage über flüssige Nährböden, bis sich ihre Beweglichkeit ausgebildet hat.

Messerli (22) beschreibt den *Vibrio coli* des Schweines als leicht gebogenes plumpes Stübchen.

b) Kulturelle und biochemische Eigenschaften

Wachstum: anaerob. Wächst auf festen Nährböden im Zeisslertopf bei einer 10-20%igen CO_2 -Spannung; in flüssigen Nährböden aber auch aerobes Wachstum. Nach Rolle und Mundt (28) bilden die Reinkulturen auf Blutagar bei 37°C mit und ohne CO_2 anfangs kleine, erhabene, später dickere, rotbraune mikrokokkenähnliche Kolonien. Spirillen entwickeln sich auf Gelatine und bilden nach 2 Tagen rotbraunes Pigment. Auch auf festem Thiol-Medium tritt rotbraune Pigmentbildung in Erscheinung.

Rolle (27) schreibt dem "*Spirillum suis*" eine Katalase-Aktivität zu. Schwefelwasserstoff wird nicht gebildet. Harms und Hörter (12) konnten feststellen, daß die *Suis*-Vibrionen kein Indol zu bilden vermögen und daß sie die Zucker nicht angreifen. Gelatine wird nicht verflüssigt.

c) Pathogenität

Unter gewöhnlichen Bedingungen ruft er bei Labortieren nach i.v. Applikation keine klinischen Erscheinungen hervor.

Doyle (6) übertrug 1946 durch Verfütterung von Vibrionenkulturen erstmals künstlich Schweinedysenterie.

P. v. Ballmoos (1) ist es auch gelungen, durch Verfütterung von Vibrionenkulturen bei Läuferschweinen vorübergehenden Durchfall auszulösen. Er verfütterte jeden 2. Tag eine halbe mit Vibrionen bewachsene Blutagarplatte.

C. BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGSMÖGLICHKEITEN VON VIBRIONENÄHNLICHEN KEIMEN

1. Katalaseprobe

Zur Ermittlung des Katalasebildungsvermögens wurde von Bryner und Frank (3) folgende Methode angewandt:

Drei Tage alte Kulturen in Bacto-Thiolmedium wurden mit der gleichen Menge einer 3%igen H_2O_2 -Lösung versetzt; die Röhrchen mit einem durch eine Kapillare durchbohrten Gummistopfen verschlossen und das Ganze rasch umgekehrt auf ein zweites Zentrifugenröhrchen gesetzt. Nach einer Reaktionszeit von 20 Minuten wurde die im unteren Röhrchen aufgefangene, aus dem oberen Röhrchen durch das dort gebildete Gas verdrängte Flüssigkeitsmenge gemessen. Bis zu 5 mm^3 wurde als negativer, über 5 mm^3 als positiver Ausfall der Probe angesehen.

Hubrig und Wohanka (14) verwendeten Leberbouillon. Nur ist hier zu berücksichtigen, daß die Keimdichte in diesem Substrat geringer ist und die in der Bouillon vorhandene Leber einen gewissen Katalasegehalt aufweist, was ein unsicheres Ergebnis vortäuschen kann.

Die Methode nach Ristic (26) ist genauer. Er machte den Test mit Vibrionensuspensionen, die durch Abschwemmen 60 Stunden alter Kulturen von Albimi-Brucella-Agar gewonnen wurden. Die Suspensionen wurden auf einen Mc-Farland-Standard Nr. 2 eingestellt.

2. Schwefelwasserstoffbildung

Bryner und Frank (3) verwendeten zur Prüfung auf Schwefelwasserstoff ein Nährmedium, das sich aus 10,0 g Pepton (Witte), 5,0 g Kochsalz und 100 ccm Bouillon zusammensetzte und in Röhrchen abgefüllt wurde. Nach der Beimpfung wurde am Stopfen des Röhrchens ein Bleiazetatstreifen befestigt. Nach 24stündiger Bebrütung bei 37°C ohne CO_2 -Anwesenheit schwärzte sich im positiven Falle der präparierte Streifen durch die Bildung von Bleisulfid.

Scharf (29) verwendete zur Prüfung einer Schwefelwasserstoffbildung Eisenagar nach Kligler. Die Vibrionenkulturen wurden in den Testnähr-

boden geimpft und bei 37°C 72 Stunden lang bebrütet. Schon nach 24 Stunden zeigte sich bei H₂S-Bildung eine Schwarzfärbung des Eisenagars, bei negativer Reaktion behielt der Nährboden seine rote Farbe.

3. Nitratreduktion

Wie auch viele andere Autoren, berichten Bryner und Frank (3) und Mundt (25a), daß sowohl die katalase-negativen wie die katalase-positiven Vibrionenstämme Nitrat zu Nitrit zu reduzieren vermögen. Der Nitritnachweis erfolgt mit dem Griess-Ilosvay-Reagenz.

4. NaCl-Toleranz

Von gleichgroßer Wichtigkeit wie das Katalase- und H₂S-Bildungsvermögen ist für die Einteilung der Vibrionen nach den Berichten der 1957 in Rom unter dem Vorsitz von Florent abgehaltenen Panel-Diskussion auch das Verhalten im Nährsubstrat mit 3% NaCl und mehr.

Kuzdas und Morse (18) verwendeten für die Ermittlung der NaCl-Toleranz Albimi-Brucella-Bouillon mit 0,1% Agar. Vibrio-fetus-Stämme boviner und oviner Herkunft zeigten nur ein Wachstum bis zu 2,5% NaCl.

Diliello, Poelma und Faber (5) untersuchten 6 Stämme von aus dem Schweinedarm isolierten Vibrionen. 3 Stämme wuchsen in einem Medium mit 3%igem Kochsalzgehalt.

D. NÄHRBÖDEN ZUR ZÜCHTUNG UND AUFBEWAHRUNG VON SPIRILLEN UND VIBRIONEN

Die vibrionenähnlichen Keime können in flüssigen, halbflüssigen und auf festen Nährböden gezüchtet werden. Zum Wachstum benötigen die Keime die Sulfhydrylgruppe und zwar dienen Natriumthiolglykolat, Gluthation oder Cystein als Schwefelquellen. Zusatz von Serum oder Blut wirkt sich ebenfalls gut auf das Wachstum der Keime aus.

a) Flüssige und gallertige Nährmedien

Harms und Hörter (12) entwickelten auf der Suche nach einem neuen

Nährboden, der es gestattet, die Vibrionen ohne kurzfristige Überimpfung längere Zeit lebend zu erhalten, einen flüssigen Nährboden, der Schweinedickdärme als Ausgangsmaterial hat. Es wurde die örtliche Gebundenheit der Suis-Vibrionen - sie werden in der Regel in der Dickdarmschleimhaut nachgewiesen - dahingehend gedeutet, daß in der Darmwand den Vibrionen besonders zusagende Stoffe enthalten sein müßten. Der Nährboden hat folgende Zusammensetzung: Grob gereinigter Schweinedickdarm wird mit Wasser im Verhältnis 1 : 2 eine Stunde lang gekocht, die Darmbrühe anschließend filtriert und 1% Pepton und 0,3% NaCl zugesetzt. Der pH-Wert wird auf 7,4 eingestellt. Bebrütet wird im Brutschrank bei 37°C. Noch nach 10 Wochen können mikroskopisch zahlreiche Vibrionen nachgewiesen werden, die zum Teil knotige Verdickungen besitzen.

Parallel laufende Kulturversuche mit Nährbouillon und Serumbouillon zeigen eine Vermehrungsfähigkeit der Vibrionen bis höchstens 5 Wochen. In der Leberbouillon halten sie sich 6 Wochen lebend. Versuche mit steriler Magermilch ergaben eine Lebensfähigkeit der Suis-Vibrionen bis zu einem Jahr. Die zuparaffinierten Röhrchen werden unter aeroben Bedingungen im Brutschrank aufbewahrt.

Rolle und Mundt (28) hatten gute Ergebnisse bei der Züchtung von vibriionenähnlichen Keimen in Thiol-Medium nach Huddleson, mit Natriumthioglykolat- (10 /ccm) und Gluthationzusatz (50 /ccm) zur Nährbouillon.

Vibrionen kultivierten sie in Peptonwasser mit Leberzusatz, das folgendermaßen hergestellt wird: 1000 ml Aqua dest., 10 g Pepton "Witte" und 5 g NaCl wurden gemischt und 20 Minuten lang im Dampftopf gekocht; nach der Abkühlung wurde der pH-Wert auf 7,6 eingestellt; 250 g rohe Rinderleber wird in 8 cm lange und 1 cm breite Scheiben geschnitten, dem Substrat zugesetzt und dieses 20 Stunden bei 20°C stehen gelassen. Auf drei aufeinanderfolgenden Tagen wurde das Medium jeweils 30 Minuten lang im Dampftopf erhitzt; danach wurde es bei Zimmertemperatur so lange stehen gelassen, bis sich die Leberstücke gesetzt hatten. Die überstehende Flüssigkeit wurde zu 5 ml in Kulturröhrchen abgefüllt.

Messerli (22) fand in Serumbouillon mit Schweinedarmextrakt und in gewöhnlicher Bouillon mit Schweinedarmextrakt hochgradiges Wachstum der Schweinevibrionen in 12 - 24 Stunden, aber nur in 13 - 15%iger CO₂-Atmosphäre. Außerdem verwendete er Blutbouillon mit 10% Schafblut.

Ein sehr gutes Nährsubstrat für die Kultivierung und Aufbewahrung von Vibrionen ist nach Huddleson und Forrest (15) das Bacto-Thiol-Medium der Difco Laboratories Inc. Detroit Mich..

b) Feste Nährmedien

Die Verwendung fester Nährmedien ist notwendig für die Isolierung der Keime in Reinkultur aus verunreinigten Kulturen sowie aus Untersuchungsmaterial. Außerdem werden sie zur Antigenherstellung benötigt. Die meisten Autoren benutzten dazu bluthaltige Nährmedien. Rolle und Mundt (28) züchteten die Spirillen auf 10%igem Rinderblutagar. Weiterhin hatten sie Erfolge mit Thiol-Medium mit 2% Agaranteilen und mit Natriumthioglykolatnährboden mit 2% Agar.

Hubrig (13) benutzte als festes Medium einen Nähragar, der 15 - 20% defibriertes Pferdeblut enthielt. Nach Florent und Vandeplassche (9) empfiehlt sich ein 10%iger Blutagar, dem Brillantgrün in der Verdünnung 1 : 40 000 zur Unterdrückung einer unerwünschten Begleitflora zugefügt wurde.

Rolle (27) gibt als weitere Hemmstoffe an: Polymyxin gegen *Pseudomonas aeruginosa* und Natriumacid gegen andere Begleitbakterien.

Messerli (22) verwandte folgende Medien:

- a) Schafblutagar
- b) Agar mit Zusatz von 10 - 15% Serum
- c) Serumagar mit Schweinedarmextrakt
- d) Gewöhnlicher Agar mit Schweinedarmextrakt.

Bei Serumagar wuchsen die Mikroben eventuell schon nach 5 Stunden in einer 13-15%igen CO₂-Atmosphäre.

E. SEROLOGISCHE DIFFERENZIERUNG

Da sich die Vibrionen und die Spirillen in ihren morphologischen, kulturellen und biochemischen Eigenschaften als sehr ähnlich erweisen, ist die serologische Differenzierung von großem Nutzen. Zur serologischen Trennung von vibrionenähnlichen Keimen ist das Agglutinationsverfahren herangezogen worden.

Agglutinationsmethode

Von der serologischen Differenzierung der Rindervibrionen wurde schon von vielen Autoren berichtet, dagegen ist von den Schweinevibrionen noch sehr wenig bekannt. Über die serologische Untersuchung des *Vibrio coli* des Schweines hat sich Messerli (22) geäußert. Er immunisierte 2 Kaninchen, 1 Schaf und 2 Schweine. Bei den Kaninchen fand er 23 Tage nach der ersten Injektion einen Titer von 1 : 640 vor, bei dem Schaf nach 15 Tagen 1 : 160 und bei den Schweinen nach 31 Tagen 1 : 1280. Außerdem hat er festgestellt, daß zwischen *Vibrio coli* des Schweines und *Vibrio fetus* keine serologische Verwandtschaft besteht. Unter 45 natürlich infizierten Schweinen konnten bei 17 Tieren spezifische Vibrionen-Agglutinine in verschiedener Titerhöhe nachgewiesen werden.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. MATERIAL UND METHODIK

a) Untersuchungsmaterial und Probenentnahmen

In der Zeit von Mitte April bis Ende Juli 1963 wurden 325 Kot-Darm-schleimhautproben aus dem Rektum von normalen Schlachtschweinen entnommen und auf das Vorhandensein von vibrionenähnlichen Keimen geprüft. Die Probenentnahme erfolgte mit der freundlichen Genehmigung der Schlachthofdirektion jeweils an den Schweineschlachttagen Dienstag und Mittwoch im Schlachthof zu München. Nach dem Heraustrennen des Darmkonvolutes aus der Bauchhöhle wurde mit einem sterilen Korlöffel ein etwa haselnußgroßes Stück Kot mit abgekratzter Schleimhaut in ein steriles Kotröhrchen verbracht.

Die Kotdarmschleimhautproben stammten von durchwegs gesunden Schweinen mit einer normalen Kotbeschaffenheit. In 4 Fällen war der Darm stark gerötet, aber es ließen sich in diesen Därmen keine Vibrionen nachweisen.

b) Anzüchtung des Untersuchungsmaterials

Im Institut kamen die Proben dann sofort zur Untersuchung. Das Untersuchungsmaterial wurde in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und davon ein Tropfen der Flüssigkeit im Nativpräparat phasenkontrastmikroskopisch (Vergrößerung 540 x) untersucht. Waren im Nativpräparat vibrionenähnliche Keime zu erkennen, so wurden durchschnittlich 3 - 8 Blutagarplatten (mit 10% Hammelblut) beimpft. Mittels einer Öse wurde ein Tropfen der Kochsalzaufschwemmung auf die Nährbodenoberfläche gebracht und anschließend mit einem Drigalskispatel gleichmäßig verteilt. Die beimpften Nährböden wurden in Zeisslertöpfe gebracht, dann evakuiert und eine CO₂-Atmosphäre von ca. 15% hergestellt. Nach 2 - 3 tägiger Bebrütung bei 37°C wurden die Töpfe geöffnet, wobei das zischende Einstromen der Außenluft den noch bestehenden Unterdruck im Gefäß anzeigte.

Nach dieser Zeit wurden von den gewachsenen Kolonien Frischpräparate hergestellt. Jeweils eine Kolonie wurde mit einem Tropfen Leberbouillon auf einem Objektträger verrieben und mit dem Phasenkontrastmikroskop

untersucht. Wurden vibrionenähnliche Keime entdeckt, die sich in ihrer Form und ihrer typischen Bewegung erkennen ließen, so wurde das Deckgläschen von dem Objektträger entfernt und mit einer Öse die verdächtigen Keime in ein Leberbouillonröhrchen überimpft. Außerdem wurden ähnliche Kolonien von der Blutplatte in Leberbouillon gebracht und nach 2 Tagen auf vibrionenähnliche Keime untersucht. Reinkulturen wurden durch mehrmaligen Wechsel Blutplatte - Leberbouillon hergestellt und anschließend in Leberbouillon und Thiolmedium als Sammlungsstamm, mit der betreffenden Probennummer versehen, aufbewahrt. Spätestens alle 3 Wochen wurden die Stämme neu in Leberbouillon überimpft und zwischen durch Passagen über Blutplatten gemacht.

Die Anzüchtung der Keime aus dem Untersuchungsmaterial ist aus Tabelle I ersichtlich.

TABELLE I
Kot-Darmschleimhautproben

Tag der Entnahme	Probe- nummern	mikroskopische Untersuchung Nativpräparat	Wachstum auf Blutplatte	Anzahl der Kolonien
14.5.1963	25	+	-	
	30	+	-	
	35	+	-	
	36	+	-	
15.5.1963	44	+	-	
	46	+	-	
	50	+	-	
	51	+	-	
21.5.1963	64	+	-	
	65	+	-	
	68	+	-	
22.5.1963	73	+	-	
	75	+	-	
	90	+	-	

Tabelle I (Fortsetzung)

Tag der Entnahme	Probe- nummern	mikroskopische Untersuchung Nativpräparat	Wachstum auf Blutplatte	Anzahl der Kolonien
28.5.1963	102	+	-	
	105	+	-	12
	118	+	+	4
5.6.1963	121	+	+	23
	128	+	+	7
11.6.1963	146	+	-	
	148	+	-	
	149	+	-	
	153	+	-	
	157	+	-	
	165	+	+	8
	170	+	-	
19.6.1963	172	+	-	
	178	+	-	
	179	+	-	
	185	+	-	
	189	+	-	
	194	+	+	5
25.6.1963	201	+	-	
	203	+	-	
	205	+	-	
	208	+	-	
	210	+	-	
26.6.1963	211	+	-	
	221	+	-	
3.7.1963	237	+	-	
	245	+	-	
16.7.1963	265	+	-	
17.7.1963	279	+	-	
	293	+	+	3
23.7.1963	316	+	-	
	321	+	-	

B. MORPHOLOGIE

Die vibrionenähnlichen Keime des Schweines sind kommaförmige, oft mit 2 - 4 gestreckten Spiralwindungen versehene Zellen. In älteren Kulturen kommen auch längere Formen mit bis zu 10 Windungen vor, bei denen eine langsamere Motilität zu beobachten ist. Die einzelnen Zellen zeigen lebhafte Bewegung und verlassen das Blickfeld schnell. Bei der Untersuchung der Kot-Darmschleimhautproben im Nativpräparat (Phasenkontrast) waren die vibrionenähnlichen Keime immer als Zellen mit 8 - 10 engen Spiralwindungen zu sehen, die schnell, um die Längsachse rotierend, ruckartige Vor- und Rückwärtsbewegung ausführten.

Die Suis-Vibrionen zeigten bei Phasenkontrastbeobachtung von festen Kulturen, daß sie im Vergleich zu den Vibrionen aus dem Rinderdarm keine besonders abweichenden Eigenschaften der Fortbewegungsart sowie auch der Form und Größe erkennen ließen. Es ist daher unmöglich, die beiden Keimarten im Phasenkontrast mit Sicherheit voneinander zu unterscheiden. Mit der Viktoriablaufärfung (3% und 1 Minute) bei 3 Tage alten Ausstrichen von festen Nährböden zeigten sich die vibrionenähnlichen Keime aus dem Schweinedarm als einzelne und zusammenhängende stäbchenförmige Zellen mit wenig ausgeprägter Krümmung. Wenn dagegen aus dem Rinderdarm isolierte Vibrionen des gleichen Alters aus festen Nährböden gefärbt werden, so erscheinen diese auch als einzelne oder zusammenhängende Zellen, aber mit stark ausgeprägter Krümmung.

Die vibrionenähnlichen Keime aus dem Schweinedarm haben auf einigen festen Nährböden die Eigenschaft, kleinere Abweichungen in ihrer Morphologie zu erfahren. Im gefärbten Ausstrich von der Blutplatte erkennt man sie als einzelne und zusammenhängende stäbchenförmige Zellen mit wenig ausgeprägter Krümmung. Vom Natriumthiolglykolatagar stammend, sind sie als längere, gebogene Keime zu sehen. Auf Verdauungsbouillonagar wachsen sie als schlanke, kurze, stäbchenförmige und leicht gebogene Zellen.

Um ein genaueres Bild von der Begeißelung und der Morphologie der Keime zu bekommen, wurden elektronenmikroskopische Aufnahmen gemacht. Die Aufnahmen wurden durch das lebenswürdige Entgegenkommen von Herrn Professor Dr. Herrlich in der Bayerischen Landesimpfanstalt angefertigt. Es stand das E.M. I von Siemens zur Verfügung.

Als Ausgangsmaterial dienten bewegliche vibrionenähnliche Keime aus dem Schweinedarm, die in Leberbouillon gehalten wurden. Die Leberbouillon wurde dreimal gewaschen und anschließend mit einer Kapillare Material auf ein mit einer Formafolie überzogenes Kupfernetz gebracht. Mit Osmiumsäure ließen sich die Geißeln gut fixieren. Die Bedampfung der Keime erfolgte ca. 20 Minuten mit Platin-Rhodium im Winkel von 15° . Bei einer Vergrößerung von 20 000 zeigte sich, daß die Keime bipolar mit einer Geißel behaftet sind. Neben einzelnen kommaförmigen Zellen sind auch Zellverbände vorhanden, die an beiden Enden des Verbandes begeißelt sind. Die Zellen weisen zugespitzte Enden auf. Das Zellinnere ist homogen und undurchsichtig.

Neben diesen bipolar begeißelten Zellen sind auch noch unbegeißelte Zellen vorhanden, die eine Innenstruktur aufweisen. Die Zellen sehen wie dicke Stäbchen mit abgerundeten Enden aus. Die Innenstruktur besteht aus einer wechselnden Zahl von größeren hellen und kleineren dunkleren Granula. Diese Zellen mit Granulierungen kommen in älteren Kulturen (5 Tage) häufiger als in jungen Kulturen vor.

Bei 48 Stunden alten Kulturen von der Blutplatte waren die Zellen unbegeißelt. Nach 5 Tagen hatten aber auch die Zellen von der Blutplatte lange Geißeln ausgebildet. Unbegeißelte Zellen mit Granulierungen kamen ebenfalls häufig vor. Die unbegeißelten Zellen mit Innenstruktur wurden auch bei Vibrionen aus dem Rinderdarm gesehen.



Abb. 1: Vibrionenähnlicher Keim aus dem Schweinedarm, bipolar begeißelt (elektronenmikroskopische Aufnahme, 20 000 x, bedampft) ¹⁾



Abb. 2: Vibrionenähnlicher Keim aus dem Schweinedarm, unbegeißelt, mit Granula (elektronenmikroskopische Aufnahme, 25 000 x, bedampft)

1) Für die Herstellung dieser Aufnahmen sei Fräulein Darsow herzlich gedankt.

C. WACHSTUMSPRÜFUNG AUF VERSCHIEDENEN NÄHRMEDIEN

a) Flüssige und gallertartige Nährmedien

1. Leberbouillon:

Die Reagenzgläser werden 1 - 1 1/2 cm hoch mit rohem Rinder-Leberbrei gefüllt und dazu je 7 - 8 ccm Peptonlösung "Witte" gegeben. Die hierzu verwendete Peptonlösung mit 0,5% NaCl muß auf einen pH-Wert von 9,5 eingestellt werden, damit die durch dreimaliges Erhitzen (20 Minuten) im Dampftopf sterilisierte, gebrauchsfertige Leberbouillon einen End-pH von 7,2 - 7,4 aufweist.

Verwendungszweck: Anzüchtung und Aufbewahrung isolierter Vibrionenstämme und für biochemische Untersuchungen (H_2S -Probe und pH-Wert-Verschiebung).

2. Cystin-Leber-Leberbouillon nach Blaurock:

500 g zerkleinerte Leber und 1000 ccm Aqua dest. werden 2 Stunden gekocht und dann filtriert. Das Filtrat mit Aqua dest. ad. 1000 ccm wieder auffüllen und zufügen: 10 g Pepton, 5 g NaCl, 10 g Laktose und 10 ccm 1%ige Cystinlösung. Alles mischen und 7 - 8 ccm in Reagenzröhrchen abfüllen. Dazu werden dann einige Stückchen rohe Leber hinzugegeben. Der pH-Wert wird auf 9,5 eingestellt, dreimal im Dampftopf 20 Minuten sterilisiert. Der End-pH muß 7,2 betragen.

Verwendungszweck: Wachstumsprüfung auf Vibrionen.

3. Nährbouillon (Fleischbouillon):

1000 ccm Fleischwasser (hergestellt aus 500 g Fleisch und 1000 ccm Wasser), 10 g Pepton (kalt angerührt) und 5 g Kochsalz. In Röhrchen 5 - 6 ccm abfüllen und fraktioniert sterilisieren oder autoklavieren bei 120°C (15 - 20 Minuten).

Verwendungszweck: Wachstumsprüfung auf Vibrionen.

4. Peptonwasser:

Peptonwasser stellt man her durch Auflösen von Pepton (Difco), gewöhnlich in folgender Zusammensetzung: 1,0 g Pepton (mit Wasser emulgiert) + 0,5 g

NaCl + 100 ccm Wasser. Reagenzien im Dampf lösen, in Röhrchen abfüllen, autoklavieren oder fraktioniert im Dampf sterilisieren.

Verwendungszweck: Anreicherung von Vibrionen.

5. Sterile Magermilch:

Die Milch wird entrahmt, je 5 ccm in Röhrchen abgefüllt und dreimal im Dampftopf 20 Minuten sterilisiert.

Verwendungszweck: Aufbewahrung von Vibrionenstämmen.

6. Bacto-Thiol-Medium:

Dieses Nährmedium besitzt folgende Zusammensetzung:

pro 1000,0 ml Medium

Proteose-Pepton Nr. 3	10,0 g
Bacto-Hefe-Extrakt	5,0 g
Bacto-Dextrose	1,0 g
NaCl	5,0 g
Thiolkomplex	8,0 g
Bacto-Agar	1,0 g
p. Amino-Benzoesäure	0,05 g

30 g des in dehydrierter Form gelieferten Mediums werden in 1000 ml kaltem Aqua dest. suspendiert. Die Suspension wird erhitzt, damit sich die Substanzen vollständig lösen. Anschließend werden je 5 ml in Kulturröhrchen abgefüllt und 15 Minuten lang bei 121°C autoklaviert.

Verwendungszweck: Aufbewahrung sowie kulturelle und biochemische Differenzierung isolierter Stämme.

Die Wachstumsergebnisse der 7 vibrionenähnlichen Stämme in flüssigen und gallertartigen Nährböden mit und ohne CO₂-Spannung sind aus Tabelle II zu ersehen.

TABELLE II

Wachstum in flüssigen und gallertartigen Nährböden
bei CO₂-Spannung und 37°C

Nr.	Pepton- Wasser (Difco)	Nähr- bouil- lon	Thiol- medium (0,1 Agar)	Leber- bouil- lon	Cystin- leber- brühe Blaurock	Na- thio- glykolat	sterile Mager- milch
105	+	+	+++	+++	++	+	+
118	+	+	+++	+++	+++	+	+
121	+	+	+++	+++	++	+	+
128	+	+	+++	+++	+++	+	+
165	+	+	+++	+++	++	+	+
194	+	+	+++	+++	+++	+	+
293	+	+	+++	+++	++	+	+

ohne CO₂-Spannung und 37°C

Nr.	Pepton- Wasser (Difco)	Nähr- bouil- lon	Thiol- medium (0,1 Agar)	Leber- bouil- lon	Cystin- leber- brühe Blaurock	Na- thio- glykolat	sterile Mager- milch
105	+	+	+++	+++	++	+	+
118	+	+	+++	+++	+++	+	+
121	+	+	+++	+++	++	+	+
128	+	+	+++	+++	+++	+	+
165	+	+	+++	+++	+++	+	+
194	+	+	+++	+++	++	+	+
293	+	+	+++	+++	++	+	+

7. Na-thioglykolatbouillon mit 0,1% Agar:

500 g Rinderherz werden nach Entfernung von Fett und Sehnen im Fleischwolf zerkleinert und mit 100 ccm sterilem Aqua dest. kalt aufgefüllt und zum Auslaugen 2 Stunden stehen gelassen. Danach wird das Substrat für 20 Minuten in den Dampftopf gestellt und anschließend filtriert. Nach dem Filtrieren werden 10 g Pepton "Witte" zugesetzt und so viel Na_2HPO_4 , daß der pH-Wert 7,4 beträgt. Die Bouillon wird nun mit 1 g geschnittenem, 24 Stunden gequollenem Agar versetzt, ferner wird 0,01 g Na-thioglykolat hinzugefügt. Hierauf wird die Mischung 20 Minuten bei 1,2 Atü autoklaviert. Nach dem Abkühlen muß der pH-Wert 7,2 betragen. Dieses Nährmedium wird zu je 3 - 5 ccm in sterile Röhrchen abgefüllt und nicht mehr sterilisiert.

Verwendungszweck: Wachstumsprüfung der Vibrionen.

b) Feste Nährmedien

1. 10%iger Hammelblutagar:

Als Grundsubstrat wurde Verdauungsbouillonagar verwendet, der wie folgt hergestellt wurde:

75 g	Pferdeherz
75 g	Rinderleber
100 g	Schweinemagen

werden durch den Fleischwolf gedreht und mit 1000 ml Aqua dest. in einen irdenen Topf gegeben, der pH-Wert mit konzentrierter Salzsäure auf 2 - 3 eingestellt und das Ganze 24 Stunden bei 37°C gehalten. Nach Abschöpfen des an der Oberfläche angesammelten Fettes wird filtriert. Das Filtrat wird bei 50°C auf einen pH-Wert von 7,6 - 7,8 eingestellt und dieses zur Ausflockung von Eiweiß auf 80°C erhitzt und nochmals filtriert. Diesem Filtrat werden noch 5 g NaCl, 1 g Glukose sowie 20 g Fadenagar zugesetzt und die Fertigstellung des Agars in der üblichen Weise durchgeführt.

Der Verdauungsbouillonagar wird verflüssigt und auf 40°C abgekühlt. Dann wird 10% steril entnommenes defibriertes Hammelblut zugesetzt und anschließend in Platten gegossen.

Verwendungszweck: Isolierung und kulturelle Differenzierung von Vibrionen; Antigenherstellung.

2. Nähragar:

Wie oben beschrieben, werden 1000 ccm Nährbouillon hergestellt und dazu 20 g Fadenagar gegeben.

Verwendungszweck: Wachstumsprüfung.

3. Na-thioglykolatagar (2 %):

Zur oben beschriebenen Na-thioglykolatbouillon werden 20 g Fadenagar gegeben.

Verwendungszweck: Wachstumsprüfung von Vibrionen.

4. Gelatine:

1000 ccm	Aqua dest.
120 g	Gelatine
3 g	Fleischextrakt
5 g	Pepton (Bacto oder Witte)

Alles langsam auf 56°C im Wasserbad erwärmen, bis Lösung eingetreten ist. Dann auf 1000 ccm mit Aqua dest. auffüllen und auf pH 7,0 einstellen.

Verwendungszweck: Prüfung der Vibrionen auf Gelatineverflüssigung.

Das Wachstum der vibrionenähnlichen Keime auf festen Nährböden ist mit und ohne CO₂-Spannung aus Tabelle III zu ersehen.

TABELLE III
Wachstum auf festen Nährböden
bei CO₂-Spannung und 37°C

Nr.	Blutagar	Gelatine	Nähragar	Verdauungs- bouillonagar	Natriumthio- glykolatagar
105	+	-	+	+	+
118	+	-	-	-	+
121	+	-	+	+	+
128	+	-	-	-	+
165	+	-	+	+	+
194	+	-	+	+	+
293	+	-	+	+	+

ohne CO₂-Spannung und 37°C

Nr.	Blutagar	Gelatine	Nähragar	Verdauungs- bouillonagar	Natriumthio- glykolatagar
105	-	-	-	-	-
118	-	-	-	-	-
121	-	-	-	-	-
128	-	-	-	-	-
165	-	-	-	-	-
194	-	-	-	-	-
293	-	-	-	-	-

Ergänzung zur Tabelle III

Kolonietypen

a) Blutagar:

Graugelbe, stechnadelstich- bis stechnadelkopfgroße, feuchtglänzende, halbkugelig erhabene und milchigtrübe Kolonien mit glattem Rand.

b) Gewöhnlicher Verdauungsbouillonagar, Nähragar und Na-thioglykolatagar:

Grauweiße, stechnadelstich- bis stechnadelkopfgroße, feuchtglänzende, halbkugelig erhabene und durchscheinende Kolonien mit glattem Rand.

D. UNTERSUCHUNG DER ISOLIERTEN VIBRIONEN AUF IHR BIOCHEMISCHES VERHALTEN

1. Katalaseprobe

In Anlehnung nach der Methode von Ristic (26) wurden die Stämme auf Blutagarplatten angezüchtet. Nach dem Abschwemmen der ca. 48 Stunden alten Kulturen wurde die Vibrionensuspension auf eine Dichte eingestellt, die einem Mc-Farland-Standard Nr. 2 entspricht.

Durchführung der Probe:

Von dieser Vibrionensuspension wurden 2 ccm mit der gleichen Menge einer 3%igen H_2O_2 -Lösung in ein Zentrifugenröhrchen pipettiert, die Röhrchen mit einem durch eine Kapillare durchbohrten Gummistopfen verschlossen und das Ganze rasch umgekehrt auf ein zweites Zentrifugenröhrchen gesetzt und in einen Ständer gestellt. Nach einer Reaktionszeit von 20 Minuten wurde der Test abgelesen. Das im oberen Röhrchen gebildete Gas verdrängte eine bestimmte Flüssigkeitsmenge. Bis zu 5 mm³ wurde als negativer, darüber als positiver Ausfall der Probe angesehen. Die 7 Stämme erwiesen sich alle als katalase-positiv.

2. Schwefelwasserstoffbildung

Als Nährmedium wurde Leberbouillon verwendet. Nach dem Beimpfen wurde am Stopfen des Röhrchens ein mit 10%igem Bleiazetat getränkter Papierstreifen befestigt. Anschließend erfolgte eine aerobe Bebrütung bei 37°C im Brutschrank. Einheitlich nach 72 Stunden wurde die Probe abgele-

sen und nach dem jeweiligen Grad der Schwarzfärbung des Streifens beurteilt. Die Stämme 118 und 128 bilden sehr stark Schwefelwasserstoff. Die übrigen 5 Stämme sind schwache H_2S -Bildner, da die Schwarzfärbung der Azetatstreifen nur wenig ausgeprägt war.

3. Nitratreduktion

a) Rezept des verwendeten Nährbodens:

10 g	Pepton-Merck aus Fleisch
5 g	NaCl
3 g	Fleischextrakt
1 g	Kaliumnitrat
auf 1000 ccm Aqua dest. pH 7,2	

b) Durchführung der Probe:

Die Teströhrchen wurden mit einer Öse voll frischer Vibrionenkultur (von der Blutplatte) beimpft und 3 Tage im Brutschrank aerob bebrütet. Nach der Bebrütung wurde jeweils 1 ccm bewachsene Bouillon mit der gleichen Menge Griess-Ilosvay-Reagenz versetzt und die Reaktion sofort abgelesen. Im positiven Falle zeigte ein intensiv roter Farbumschlag der Testflüssigkeit das Vorhandensein von Nitrit an. Alle Stämme reduzierten Nitrat zu Nitrit.

4. NaCl-Toleranz

Dazu wurde Thiol-Medium mit 0,1% Agarusatz nach Huddleson, dessen Kochsalzgehalt auf 3% erhöht worden war, verwendet. Nach der Beimpfung wurden die Röhrchen 3 Tage aerob bei 37°C bebrütet und dann auf das Wachstum der Vibrionen geprüft. In diesem Medium wuchsen nur die Stämme 118 und 128.

5. Wachstumsprüfung in Na-thioglykolatbouillon mit 1% Harnstoffzusatz

Die beimpften Röhrchen wurden 3 Tage in normalem Brutschrankmilieu gehalten und dann durch Ausstreichen einer Öse beimpfter Bouillon auf einer Blutplatte auf Vibrionenwachstum geprüft. Die Stämme 118 und 128 zeigten kein Wachstum, während die übrigen Stämme sehr gut wuchsen.

6. Indolnachweis

Das verwendete Nährmedium ist ein Difco-Erzeugnis mit folgender Zusammensetzung:

Bacto-Tryptose	20,0 g
Sodium Chloride	5,0 g
Bacto-Dextrose	1,0 g

Als Reagens fand das nach Kovács Verwendung (siehe "Nährböden" Hallmann S. 55).

Die beimpften und bebrüteten Trypsinbouillonröhrchen wurden durch Zusatz von einigen Tropfen Kovács-Reagenz auf Indol geprüft. Es trat bei allen Stämmen keine Rotfärbung als Zeichen für eine positive Reaktion auf.

7. pH-Wert-Bestimmung

Beimpfte Leberbouillonröhrchen wurden 8 Tage bei 37°C aerob bebrütet und anschließend der pH-Wert gemessen, um eine pH-Wert-Verschiebung zu erkennen.

Die Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen sind in Tabelle IV zusammengefaßt.

TABELLE IV
Biochemische Untersuchungen

Nr.	Katalase	H ₂ S	Nitrat- reduktion	NaCl- Toleranz	Indol	Na-thio- glykolat 1% Harn- stoff	pH- End- Wert
105	+	+	+	-	-	+	7,7 - 7,9
118	+	+++	+	+	-	-	7,4
121	+	+	+	-	-	+	7,6 - 7,8
128	+	+++	+	+	-	-	7,4
165	+	+	+	-	-	+	7,6 - 7,8
194	+	+	+	-	-	+	7,6 - 7,8
293	+	+	+	-	-	+	7,6 - 7,8

E. SEROLOGISCHE DIFFERENZIERUNG DER AUS DEM SCHWEINEDARM ISOLIERTEN VIBRIONEN-STÄMME

1. Herstellung der Antigene

Von den 7 verwendeten Stämmen wurden Antigene auf festen Nährmedien hergestellt. Als Nährsubstrat wurde dabei 10%iger Hammelblutagar verwendet. Zum Beimpfen der Nährmedien wurden 2 - 3 Tage alte, gut entwickelte und lebhaft bewegliche Vibrionenkulturen aus Leberbouillonröhrchen verwendet. Mit einer Öse wurden 2 - 3 Tropfen Impfmateriel auf jede Platte gebracht. Mit einem Drigalskispatel wurde anschließend die Flüssigkeit auf der Nährbodenoberfläche verteilt. Die beimpften Nährböden wurden in Zeissler-Töpfe gebracht, dann evakuiert und eine CO₂-Atmosphäre von ca. 15% hergestellt. Nach 2 - 3 Tagen war auf den Blutplatten ein confluerender Bakterienrasen gewachsen. Dieser wurde dann mit steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Die so gewonnene Bakterienaufschwemmung wurde im Phasenkontrastmikroskop (Objektiv 90 x, Okular 6 x) auf Reinheit geprüft.

2. Herstellung der Antisera

Zwei Stämme wurden ausgewählt, um Antiseren zu gewinnen. Zur Herstellung von Antiseren wurden 2 Kaninchen lebende Vibrionen der Stämme 105 und 121 intravenös verabreicht. Das Immunisierungsantigen wurde auf eine Dichte eingestellt, die einem Mc-Farland-Standard Nr. 5 entspricht und innerhalb von 14 Tagen in 10 Dosen zu 2 ccm in die Ohr- randvene gespritzt. Das Allgemeinbefinden der Versuchstiere blieb dabei unverändert.

Am 20. Tag nach der ersten Injektion wurde aus der Ohr- randvene der Kaninchen Blut mit einer Rekordspritze entnommen. Das in Zentrifugenröhrchen gegebene Blut wurde über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach dem Absetzen des Blutkuchens wurde das Serum durch Zentrifugieren bei 3000 Umdrehungen pro Minute gewonnen. Das gewonnene Serum wurde im Kühlschrank für die weiteren Untersuchungen aufbewahrt.

3. Ausführung der Agglutination

Serumlangsamagglutination:

Es wurde eine Serum-Grundverdünnung von 1 : 20 hergestellt (0,1 ccm Serum und 1,9 ccm Kochsalzlösung). In die folgenden Röhrchen wurde jeweils 1 ccm Kochsalzlösung eingefüllt. Nun wurde von der gründlich durchmischten Grundverdünnung im ersten Röhrchen 1 ccm ins folgende Gläschen überpipettiert, dort wieder gemischt und so eine fallende Serumverdünnung von 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160 bis 1 : 5120 hergestellt.

Die Agglutinationsantigene wurden vor ihrer Verwendung auf eine Dichte, die dem Mc-Farland-Standard Nr. 5 entsprach, eingestellt. In jedes Röhrchen wurde nun 1 Tropfen Agglutinationsantigen gegeben und durch Schütteln homogen verteilt. Zur Kontrolle wurde in ein Röhrchen mit 1 ccm Kochsalzlösung ein Tropfen Antigen gegeben. Die Agglutinationsproben verblieben für 20 Stunden im Brutschrank bei 37°C und wurden dann vor dem Ablesen für eine Stunde bei Zimmertemperatur abgestellt. Als Endtiter galt die Serumverdünnung, die noch eine Agglutination aufwies. Der Endtiter war bei allen Stämmen 1 : 320.

4. Kreuzagglutinationstest zwischen Vibrionen aus dem Schweinedarm und Vibrionen aus dem Rinderdarm

Da sich die Rindervibrionen-Stämme und die *Vibrio suis*-Stämme in ihren morphologischen, kulturellen und biochemischen Eigenschaften sehr ähneln, wurde zum Vergleich ein Kreuzagglutinationstest gemacht.

Von den im Haus vorhandenen Rindervibrionen-Stämmen wurden 15 Stämme ausgewählt und zwar Nr. 27, 115, 131, 135, 144, 152, 156, 173, 173a, 189, 204, 239, 265, 282, 284. Ebenso waren noch Seren von Kaninchen aufbewahrt, die mit den *Vibrio*-fetus-Stämmen Nr. 27, 115, 173, 189 und 204 immunisiert worden waren. Der Endtiter der Rindervibrionen-Antisera war 1 : 1280. Von den mit Schweinevibrionen immunisierten Kaninchen wurden Antisera mit einem Endtiter von nur 1 : 320 gewonnen.

Die Ergebnisse der Agglutinationen sind in der Tabelle V zusammengefaßt.

Aus der Tabelle V ist ersichtlich, daß die Vibrionen aus dem Schweinedarm in keinem Falle von den 5 Antisera gegen Rindervibrionen, auch in der Verdünnung von 1 : 20, agglutiniert wurden. Dagegen agglutinierten alle 7 Stämme der Schweinevibrionen mit den 2 Antisera bis zum Endtiter 1 : 320 und in keinem Falle die Vibrionen aus dem Rinderdarm.

5. Herstellung der Antisera von Meerschweinchen gegen Vibrionen aus dem Schweinedarm

Bei den Meerschweinchenversuchen wurde folgende Versuchsanordnung getroffen:

Je 2 Meerschweinchen wurden mit den Stämmen 105 und 121 intraperitoneal oder subcutan geimpft. Das Kulturmaterial wurde von festen Nährböden mit steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und auf eine Dichte, die einem Mc-Farland-Standard Nr. 5 entspricht, eingestellt. Die Tiere wurden, ähnlich wie die Kaninchen, 3 - 5 mal in Intervallen, die aus der nachstehenden Zusammenstellung ersichtlich sind, behandelt.

Die beiden Meerschweinchen mit der Stammmummer 105 bekamen folgende Mengen Vibrionenaufschwemmung injiziert:

1. <u>intraperitoneal</u>	2. <u>subcutan</u>
2.9.1963 2,0 ccm	2,0 ccm
5.9.1963 3,0 ccm	3,0 ccm
9.9.1963 2,5 ccm	2,5 ccm

Die 2 Meerschweinchen mit der Stammmummer 121 bekamen verhältnismäßig viel Kulturmaterial eingespritzt.

1. <u>intraperitoneal</u>	2. <u>subcutan</u>
27.8.1963 1,0 ccm	1,0 ccm
29.8.1963 5,0 ccm	5,0 ccm
2.9.1963 5,0 ccm	5,0 ccm
5.9.1963 3,0 ccm	3,0 ccm
9.9.1963 5,0 ccm	5,0 ccm

Die beiden Meerschweinchen, die mit den Stammmummern 121 und 105 durch i.p.-Applikation immunisiert waren, wurden 1 Tag und 4 Tage nach der letzten Injektion entblutet; die Meerschweinchen, die s.c. behandelt worden waren, kamen nach 14 Tagen zur Entblutung.

Bei allen vier Meerschweinchen konnten im Serum durch die Agglutination in der Verdünnung 1 : 20 keine spezifischen Antikörper nachgewiesen werden. Die Organe waren bei der Sektion nicht verändert. Der Erregernachweis aus den Organen konnte bei den Meerschweinchen, ebenso wie bei den Kaninchen, sowohl im Nativpräparat als auch kulturell nicht geführt werden.

IV. DISKUSSION

Es wurden 325 Kot-Darmschleimhautproben aus dem Rektum von normalen Schlachtschweinen entnommen und auf vibrionenähnliche Keime untersucht. Bei der Untersuchung im Nativpräparat konnten im Phasenkontrastmikroskop 46mal (= 14,1%) vibrionenähnliche Keime festgestellt werden. Von diesen 46 positiven Proben ließen sich nur von den Proben Nr. 105, 118, 121, 128, 165, 194, 293 Vibrionen in Reinkultur gewinnen (= 2,1% von 325 Proben oder 15,2% von 46 positiven Proben).

Die Schwierigkeiten bei der Anzüchtung der Keime und bei der Gewinnung von Reinkulturen ergaben sich einmal aus der geringen Anzahl von lebensfähigen Keimen in den Proben und dann in der Verschiebung der Lebensbedingungen vom Tode des Schweines bis zur Untersuchung der Proben.

Zur Anzüchtung eignete sich als festes Nährmedium am besten Verdauungsbouillonagar mit 10% Hammelblutzusatz. Im Zeissler-Topf wuchsen die Stämme bei einer ca. 15%igen CO₂-Spannung in 48 Stunden; nur die Stämme 118 und 128 benötigten 3 Tage.

Die vibrionenähnlichen Keime aus dem Rektum von Schweinen wuchsen außerdem auf Nähragar und Natriumthioglykolatnährboden mit 2% Agaranteilen. Die Stämme 118 und 128 zeigten auf Nähragar kein Wachstum.

Zur Aufbewahrung der Stämme erwiesen sich Leberbouillon und Thiol-Medium mit 0,1% Agarzusatz nach Huddleson als günstig. Im Peptonwasser (Difco) ließen sich die vibrionenähnlichen Keime anreichern. Ebenso wie bei Harms und Hörter (12) ergaben die Versuche mit steriler Magermilch eine Lebensfähigkeit der Suis-Vibrionen von mehreren Monaten.

Während auf den festen Nährmedien die vibrionenähnlichen Keime des Schweines nur bei einer ca. 15%igen CO₂-Spannung wuchsen, konnte bei den flüssigen und gallertigen Nährmedien auch Wachstum unter aeroben Bedingungen festgestellt werden.

Der Stamm 121 hatte die Neigung, in Leberbouillon nach 24 Stunden kokkoide Formen anzunehmen. Bei einer Passage über Hammelblutagar kamen wieder die ursprünglich beweglichen, kommaförmigen und spirali- gen Zellen zum Vorschein.

Im Phasenkontrast lassen sich die Suis-Vibrionen von den Vibrionen aus dem Rinderdarm nicht unterscheiden. Zur Unterscheidung der Morphologie dient der aus festen Nährmedien stammende gefärbte Ausstrich. Bei drei Tage alten Ausstrichen vom Blutagar zeigten sich die vibrionenähnlichen Keime aus dem Schweinedarm als einzelne und zusammenhängende stäb- chenförmige Zellen mit wenig ausgeprägter Krümmung. Vibrionen aus dem Rinderdarm dagegen erscheinen ebenfalls als einzelne oder zusammen- hängende Zellen, aber mit stark ausgeprägter Krümmung.

Um die Morphologie der vibrionenähnlichen Keime des Schweines genauer zu studieren, wurden elektronenmikroskopische Aufnahmen gemacht. Da- bei zeigte sich, daß die Mikroben bipolar mit einer Geißel behaftet sind. Neben einzelnen kommaförmigen Zellen sind auch Zellverbände vorhan- den, die an beiden Enden des Verbandes begeißelt sind. Außer diesen bipolar begeißelten Zellen gibt es auch noch unbegeißelte Zellen, die eine Innenstruktur aufweisen. Die Innenstruktur besteht aus einer wechseln- den Zahl von größeren hellen und kleineren dunklen Granula. Die letzte- ren Zellen kamen häufiger in älteren Kulturen vor. Auf Blutagar zerfielen die vibrionenähnlichen Keime nach 4 - 5 Tagen Bebrütungszeit in kleine mikrokokkenähnliche Granula. Diese Ergebnisse stimmen im großen und ganzen mit den Angaben von Rolle und Mundt (28) überein.

Bei der Prüfung auf Katalasebildungsvermögen erwiesen sich alle 7 Stäm- me als katalase-positiv. Sie zeigten die Tendenz, den pH-Wert der ver- wendeten Leberbouillon von 6,8 - 7,0 mehr in den alkalischen Bereich von pH-Wert 7,6 - 7,8 zu verschieben. Alle 7 Stämme sind Schwefel- wasserstoffbildner. Die Stämme 118 und 128 bildeten in großer Menge Schwefelwasserstoff mit vollständiger Schwärzung des eingeklemmten Blei- acetatstreifens und wuchsen auch nicht in einem Natriumthioglykolat- medium, das 1% Harnstoff enthielt. Alle Stämme waren fähig, Nitrat zu Nitrit zu reduzieren. Im Thiol-Medium mit 0,1% Agarzusatz nach Huddleson, dessen Kochsalzgehalt auf 3% erhöht worden war, gediehen nur die Stämme 118 und 128. Die übrigen 5 Stämme wuchsen in diesem Medium nicht. Indol wurde nicht gebildet.

Biochemisch lassen sich die Stämme 118 und 128 von den anderen 5 Stämmen abtrennen. Sie sind stärkere H_2S -Bildner, wachsen nicht in einem Nährmedium mit 1% Harnstoffzusatz, verschieben den pH-Wert nur gering in den basischen Bereich und wachsen in Thiol-Medium mit 0,1% Agar-zusatz mit 3%igem Kochsalzgehalt.

Diliello, Poelma und Faber (5) fanden, daß die aus dem Schweinedarm isolierten Vibrionen in ihren biochemischen Reaktionen nicht einheitlich sind.

Zwischen den vibrionenähnlichen Keimen des Schweines und den Vibrionen aus dem Rinderdarm konnten morphologisch, kulturell und mit Hilfe einiger biochemischer Differenzierungsverfahren keine Unterschiede festgestellt werden. Aus diesem Grunde wurde das serologische Untersuchungsverfahren mit dem Kreuzagglutinationstest durchgeführt. Und zwar wurden zuerst mit den Suis-Stämmen Nr. 105 und 121 Kaninchenantisera hergestellt und alle 7 Stämme mit dem Langsamagglutinationsverfahren geprüft. Sie wurden mit den beiden Sera bis zu einem Endtiter von 1 : 320 agglutiniert. Die Stämme Nr. 118 und 128 zeigten eine feinere Agglutination als die übrigen 5 Stämme. Anschließend wurden 15 Rindervibrionen-Stämme aus der Institutssammlung mit den beiden Sera getestet. Eine Agglutination war nicht zu erkennen.

Außerdem waren im Haus noch 5 Antisera von Kaninchen vorhanden, die mit den Rindervibrionen-Stämmen Nr. 27, 115, 173, 189 und 204 hergestellt worden waren. Der Endtiter der Rindervibrionen-Antisera war 1 : 1280. Die 7 Suis-Stämme wurden mit den 5 Sera im Kreuzagglutinationsverfahren geprüft. Auch in der Verdünnung 1 : 20 kamen keine Ausflockungen zustande, die als positives Ergebnis gewertet werden konnten.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß zwischen *Vibrio suis* und den Vibrionen aus dem Rinderdarm keine serologische Verwandtschaft besteht. Der Endtiterunterschied zwischen den Schweinevibrionen (1 : 320) und den Rindervibrionen (1 : 1280) läßt sich nur durch die verschiedenen antigenen Eigenschaften erklären.

Messerli (22) berichtet, daß die antigenen Eigenschaften bei Schweinevibrionen viel schwächer ausgeprägt sind als bei Rindervibrionen. Er fand bei Kaninchen 23 Tage nach der ersten Injektion einen Endtiter von 1 : 640.

Beim Schaf konnte er nach 15 Tagen einen Endtiter von nur 1 : 160 nachweisen. Erst nach der Immunisierung von Schweinen konnte er einen hohen Titer finden (nach 31 Tagen 1 : 1280).

Nach wiederholter Behandlung mit Antigen der Schweinevibrionen war es nicht möglich, Antikörperbildung bei Meerschweinchen zu veranlassen. Auch dieses zeigt wiederum, daß Schweinevibrionen schwache antigene Eigenschaften besitzen.

Diliello, Poelma und Faber (5) berichten, daß sie bei 6 untersuchten Stämmen aus dem Schweinedarm ohne Angabe des Endtiters der verwendeten Antisera die Stämme in 3 serologische Untergruppen eingeteilt haben.

Die biologische Bedeutung der vibrionenähnlichen Keime beim Schwein ist noch nicht sicher geklärt. Einige Autoren (Doyle, v. Ballmoos, Schmidt und Klingler) schreiben ihm eine aetiologische Bedeutung beim Zustandekommen des als Schweinedysenterie bezeichneten Krankheitsbildes zu.

P. v. Ballmoos (1) und Doyle (6) konnten im Fütterungsversuch mit bewachsenen Blutagarplatten einen zeitweiligen Durchfall mit leichten Fiebererschüben hervorrufen. Ein paar Wochen nach dem Versuch waren die Tiere bei der Schlachtung äußerlich klinisch völlig gesund. Es ist nicht ausgeschlossen, daß nicht selten die Durchfälle nach einer langdauernden Verfütterung von Blutagar ähnlich wie nach einer grassen Fütterungsumstellung hervorgerufen werden können.

Die mit dem Blutagar verfütterten Vibrionen könnten als Sekundärinfektionserreger die oben erwähnten Symptome hervorrufen. Damit könnte man auch erklären, daß die Durchfälle bei Schweinen nicht primär durch Vibrionen hervorgerufen werden, da auch bei gesunden Schweinen sehr oft Vibrionen nachgewiesen werden. Bei der Entstehung der Durchfälle scheint noch eine andere Noxe beteiligt zu sein.

Die von mir untersuchten Schlachtschweine hatten alle ein Gewicht von 90 - 110 kg. Von den 325 Tieren waren 46 mit vibrionenähnlichen Keimen infiziert. Da keines von den infizierten Schweinen klinisch erkrankt war oder pathologisch-anatomische Veränderungen aufwies, ist nur die Möglichkeit einer latenten Infektion gegeben.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Bei 325 gesunden Schlachtschweinen wurden mikroskopisch bei 46 Tieren vibrionenähnliche Keime nachgewiesen = 14,1%.
2. Von den 46 positiven Proben konnten in 7 Fällen Reinkulturen gewonnen werden.
3. Zur Züchtung und Aufbewahrung von vibrionenähnlichen Keimen des Schweines eignen sich am besten flüssige Nährböden. Im Thiol-Medium mit 0,1% Agarzusatz nach Huddleson sowie in Leberbouillon entwickeln sich die oben angeführten Keime gut. Auf Blutagar wachsen die Keime gut, aber nur bei einer ca. 15%igen CO_2 -Spannung.
4. Bei Phasenkontrastbeobachtung lassen sich die vibrionenähnlichen Keime aus dem Schweinedarm von den Vibrionen aus dem Rinderdarm morphologisch nicht unterscheiden.

Im gefärbten Ausstrich von der Blutplatte sind die vibrionenähnlichen Keime vom Schwein im Vergleich zu den Vibrionen aus dem Rinderdarm mehr stäbchenförmige Zellen mit wenig ausgeprägter Krümmung.

5. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung zeigten sich die Keime bipolar mit einer Geißel behaftet. In älteren Kulturen kommen neben diesen bipolar begeißelten Zellen häufig unbegeißelte Zellen vor, die eine Innenstruktur aufweisen.
6. Alle 7 Stämme waren fähig, Katalase und Schwefelwasserstoff zu bilden. Nitrat wurde zu Nitrit reduziert.

Biochemisch lassen sich aber die Stämme 118 und 128 von den anderen 5 Stämmen abtrennen. Sie sind stärkere H_2S -Bildner, wachsen nicht in einem Nährmedium mit 1% Harnstoffzusatz, verschieben den pH-Wert nur gering in den basischen Bereich und wachsen in Thiol-Medium mit 0,1% Agarzusatz, dessen Kochsalzgehalt auf 3% erhöht wurde.

7. Bei der serologischen Untersuchung der vibrionenähnlichen Keime vom Schwein konnte bei 2 Kaninchenantisera nur eine serologische Gruppe festgestellt werden, deren Endtiter bei 1 : 320 lag. Die Keime aus

dem Schweinedarm hatten schwache antigene Eigenschaften. Im Kreuz-agglutinationsverfahren ließen sich die vibrionenähnlichen Keime des Schweines von den Vibrionen aus dem Rinderdarm trennen.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. v. Ballmoos, P.: Über die Vibrionendysenterie des Schweines.
Inaugural-Dissertation, Bern, 1950
2. Breed, R.S.,
E.G.D. Murray and
Smith, N.R.: Bergey's Manual of Determinative
Bacteriology.
7 Th.Ed. The Williams and Wilkins
Company, Baltimore, 1957
3. Bryner, J.H. and
Frank, A.H.: A Preliminary Report on the Identification
of *Vibrio fetus*.
Am. J. Vet. Res. 16 (1955), 76 - 78
4. Cohn: Kryptogamenflora v. Schlesien 1886,
186
5. Diliello, L.R.,
Poelma, L.J. and
Faber, J.: Biochemical and Serological Separation
of Some Members of the Genus *Vibrio*.
Am.J. of Vet.Res. 20 (1959), 532 - 536
6. Doyle, L.P.: Am.J. of Vet. Res., Vol. IX (1948),
5 (1944)
7. Ehrenberg: zit. nach Lehmann und Neumann
Bakt. Diagnostik X, 2. Teil (1896)
8. Mc Fadyean und
Stockmann: Rept.Dept.Comm. Ministry Agric. on
Epizootic Abortion, London (1909),
156 ibidem (1913), 111
9. Florent, A. and
Vandeplasche, M.: Rep. 3 rd Int. Congr. on Animal Repro-
duction Cambridge 1956, Pathology
Section 15 - 17
10. Gamaleia, M.N.: Annales des Inst. Pasteur 2 (1888),
482

11. Gminder, A.: Nachweis von Spirillen als Ursache des ansteckenden Verkalbens auch in Deutschland.
Berl. Tierärztl. Wschr. 38 (1920),
184 - 185
12. Harms, Fr. und Hörter, R.: Die Züchtung von *Vibrio fetus* und *Vibrio suis*.
DTW 60 (1953), 320
13. Hubrig, Th.: Zur bakt. Diagnostik von *Vibrio fetus*.
Monatshefte vet.med. 11 (1956), 271 - 276
14. Hubrig, Th. und Wohanka, K.: Serolog. und biochem. Untersuchungen an Vibrionen.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 69 (1956),
4 - 7
15. Huddleson, J.F. and Forrest: A Satisfactory Medium for the Isolation Cultivation and maintenance of Viability of *Vibrio fetus*.
J. Bact. 56 (1948), 508
16. Koch, R.: Berl. Klin. Wschr. 21 (1884), 479
17. Kutscher: Zbl. f. Bakt. I
18. Kuzdas, C.D. and Morse, E.V.: Physiological Characteristics Differentiating *Vibrio fetus* and other *Vibrios*.
Am.J. Vet. Res. 17 (1956), 331 - 336
19. Lehmann, K.B. und Neumann, R.: Bakt. Diagn. Bd. X, II. Teil, 5. Aufl.
513
- 19a. Lehmann, K.B. und Neumann, R.: Bakt. Diagn. Bd. X, II. Teil (1896),
316

20. Lerche, M.: Spirillen als Ursache des ansteckenden Verkalbens.
Dtsche. tierärztl. Wschr. 30 (1920),
281 - 282
21. Löffler, F.: Zbl. f. Bakt. I, 19 (1886), 132
22. Messerli, W.: Bakteriologische und serologische Untersuchung über den *Vibrio coli* des Schweines.
Inaugural-Dissertation, Bern (1953)
23. Migula, W.: System der Bakterien, 1, Jena (1897)
2 ff
24. Müller, O.F.: zit. n. R. Müller: Med. Mikrobiologie,
Urban Schwarzenberg Verlag (1950)
25. Mundt, W.: Untersuchungen der Tierpathogenität von
Vibrio fetus und *Spirillum suis* aus dem
Schweinedarm an Meerschweinchen und
Kaninchen.
Der prakt. Tierarzt (1956), 89 - 92
- 25a. Mundt, W.: Das differenzialdiagnostische Problem von
Vibrionen und Spirillen.
Der prakt. Tierarzt (1956), 190 - 194
26. Ristic, M.: Am. J. Vet. Res. 17 (1956), 803 - 809
27. Rolle, M.: Mikrobiologie und allgemeine Seuchen-
lehre (1958), 249
28. Rolle, M. und
Mundt, W.: Untersuchungen über *Vibrio fetus* und
ähnliche Mikroorganismen.
Zbl. f. Veterinärmedizin Bd. I, Heft 8
(1954), 759 - 772
29. Scharf, W.: Serologische Untersuchungen über Vibrionen.
Inaugural-Dissertation, München (1958)

30. Schmid, G. und Klingler, K.: Über einige Schweinekrankheiten von einem neuen aetiologischen Faktorenkomplex aus betrachtet.
DTW 58 (1953), 185
31. Smith, Th.: J. of exp. med. 30 (1919), 313
- 31a. Smith, Th.: Zbl.f.Bakt. I, 10 (1891), 179
32. Smith and Taylor: Rept.Dept.Comm. Ministry Agric. on Epizootic Abortion, London (1909), 156
33. Williams, M.A. and Rittenberg, S.C.: A Taxonomie Study of the Genus Spirillum Ehrenberg.
Int.Bull.Bact.Nomenclat. and Tax. 7
(1957), 49 - 110
34. Wilson, G.S. and Miles, A.A.: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity 4th Ed.
Edward Arnold (Publishers) LTD.
London (1955)
35. Zopf: Die Spaltpilze.
3. Auflage (1885), 69

Nach Beendigung meiner Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. M. Rolle für die Überlassung des Themas sowie für die Anleitung und Beratung während der Arbeit herzlich danken.

Herrn Professor Dr. A. Mayr, Vorstand des Institutes für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere, bin ich zu aufrichtigem Dank verpflichtet, daß ich die vorliegende Arbeit an seinem Institut ausführen durfte.

LEBENS LAUF

Am 23. April 1939 wurde ich, Hans-Jürgen Krawietz, als Sohn des Bankkaufmanns Alois Krawietz und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Fiedler, in Oppeln/Oberschlesien geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Udestedt/Kr. Erfurt und der Oberschule in Neudietendorf/Thür. legte ich 1957 die Reifeprüfung ab.

Vom November 1957 bis April 1958 nahm ich an einem Kursus für SBZ-Abiturienten in Heidelberg teil. Im Sommersemester 1958 begann ich das Studium der Tierheilkunde an der Universität in München. In meinem 6. Fachsemester studierte ich an der Tierärztlichen Hochschule in Wien und im 7. Fachsemester an der Tierärztlichen Hochschule in Hannover.

Nach dem 7. Semester kehrte ich für die restlichen zwei klinischen Semester an die Münchener Fakultät zurück und beendete hier im März 1963 mein Studium mit der Tierärztlichen Prüfung.

Seit März 1963 bin ich im Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere mit der Anfertigung der vorliegenden Arbeit beschäftigt.

